

HPLC法同时测定维吾尔药材刺山柑中4种指标成分含量

孙璇^{1*}, 魏敏¹, 成杰^{2#}(1.新疆医科大学第六附属医院药剂科, 乌鲁木齐 830002; 2.武警新疆总队医院药局, 乌鲁木齐 830091)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-3008-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.47

摘要 目的:建立同时测定维吾尔药材刺山柑中原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚4种指标成分含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(7:93, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为327 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚进样量分别在0.260 0~50.0、3.109 0~102.0、1.018 0~40.0、0.063 0~36.0 μg范围内与各自峰面积呈良好的线性关系(r 为0.995 6、0.999 9、0.998 9、0.998 8);精密度、稳定性、重复性试验的RSD均≤1.20%;平均加样回收率分别为101.51%、99.70%、98.28%、100.97%,RSD分别为1.85%、1.23%、1.86%、1.74%($n=6$)。结论:该方法专属性强,能快速、准确地测定刺山柑药材中原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚4种指标成分的含量。

关键词 高效液相色谱法;刺山柑;原儿茶酸;芦丁;没食子酸;山柰酚

Content Determination of 4 Index Components in Uygur Medicine *Capparis spinosa* by HPLC

SUN Xuan¹, WEI Min¹, CHENG Jie²(1. Dept. of Pharmacy, the Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830002, China; 2. Armed Police Xinjiang Hospital Pharmacy, Urumqi 830091, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for determining the contents of protocatechuic acid, rutin, gallic acid and kaempferol in Uygur medicine *Capparis spinosa*. METHODS: HPLC was performed on the column of Agilent C₁₈ with the mobile phase of acetonitrile -0.1% phosphoric acid solution (7:93, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 327 nm, column temperature was 30 ℃ and volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.260 0-50.0 μg for protocatechuic acid ($r=0.995 6$), 3.109 0-102.0 μg for rutin ($r=0.999 9$), 1.018 0-40.0 μg for gallic acid ($r=0.998 9$) and 0.063 0-36.0 μg for kaempferol ($r=0.998 8$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all no more than 1.20%; average recoveries were respectively 101.51% (RSD=1.85%, $n=6$), 99.70% (RSD=1.23%, $n=6$), 98.28% (RSD=1.86%, $n=6$) and 100.97% (RSD=1.74%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is specific, and can fast and accurately determine the contents of protocatechuic acid, rutin, gallic acid and kaempferol in Uygur medicine *C. spinosa*.

KEYWORDS HPLC; *Capparis spinosa*; Protocatechuic acid; Rutin; Gallic acid; Kaempferol

刺山柑为山柑科(又称白花菜科)植物刺山柑 *Capparis spinosa* L.^[1],维吾尔医药记载本品性二级干热,味辛^[2-3],主治湿寒性或黏液质性疾疾病等。刺山柑成熟干燥果实被维吾尔族民间医用于制成酒剂可以治疗关节炎等多种疾病^[4-6],目前维吾尔医药市场栽培和野生的刺山柑药材质量参差不齐。由于不同地区用药习惯常出现1年生、2年生的习用品、代用品,严重影响了医药市场的临床疗效。文献报道,刺山柑主要含有挥发油类、硫苷类、黄酮类、生物碱类等多种化学成分^[7]。本研究采用高效液相色谱(HPLC)法对刺山柑中成分原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚进行了测定,目的是为了更地控制维吾尔药材刺山柑的质量,为评价其药用价值提供科学数据。

1 材料

1260型HPLC仪,包括G1311A型四元泵、G1322A型脱气机、G1316A型柱温箱、G1329A型自动进样器、G1315D型二极管阵列检测器(美国Agilent公司);BS110S型电子天平(德国Sartorius公司);KQ-5200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SZ-93自动双重纯水蒸馏器(巩义市英峪予华仪器

厂)。

药材共计5个批次,分别来自新疆各地药材市场、维吾尔医院详见表1。经新疆医科大学第六附属医院魏敏副主任药师鉴定为刺山柑 *Capparis spinosa* L.干燥果实。原儿茶酸对照品(批号:111520-200904,纯度>98%)、芦丁对照品(批号:100080-201304,纯度>98%)均购自中国食品药品检定研究院;没食子酸对照品(购自上海金锦乐实业有限公司,批号:20131114,纯度>98%);山柰酚对照品(购自上海基免实业有限公司,批号:20140122,纯度>98%);乙腈为色谱纯;水为纯化水。

表1 5批刺山柑药材来源

Tab 1 Origins of 5 batches of *Capparis spinosa* L.

编号	来源	批号
S1	乌鲁木齐石人沟	20140709
S2	乌鲁木齐雅山	20140922
S3	乌鲁木齐二道桥市场	20130912
S4	乌鲁木齐维吾尔医院	20131015
S5	乌鲁木齐维吾尔医院	20131123

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX Extend C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流

* 主管药师。研究方向:药物分析学。电话:0991-2615177。E-mail:liu_chong02@163.com

通信作者:教授,主任药师。研究方向:药理学、药物分析学。电话:0991-8087294。E-mail:66949837@qq.com

动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(7:93, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:327 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚对照品各适量,混匀,置同一量瓶中,加甲醇溶解制成质量浓度分别为0.472、0.521 0、0.672 0、0.581 0 mg/ml的混合对照品溶液,存放于4 ℃冰箱备用。

2.2.2 供试品溶液 刺山柑果实药材粉碎,过60目筛,称取该粉末4 g,加95%乙醇40 ml,回流提取(65 ℃)2次,每次1.5 h,提取液滤过,水浴蒸干,残渣加甲醇溶液溶解,定容至25 ml,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 系统适用性试验

分别精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。由图1可见,原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚均可达到基线分离,分离度均大于1.5,理论板数以丹参素峰计算均大于5 000。

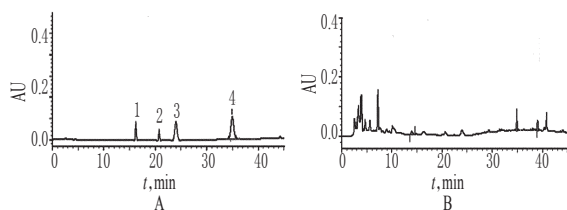


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;1.原儿茶酸;2.山柰酚;3.没食子酸;4.芦丁

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed reference; B.test sample; 1.protocatechuic acid; 2.kaempferol; 3.gallic acid; 4.rutin

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、3.0 ml,置于10 ml棕色量瓶中,加流动相至刻度,摇匀。分别精密吸取上述溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定。以对照品进样量(x , μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归。结果表明,原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚的进样量均在各自线性范围内与其峰面积呈良好的线性关系,详见表2。

表2 回归方程和线性范围

Tab 2 Regression equations and linear range

待测成分	回归方程	线性范围, μg	r
原儿茶酸	$y=413.876.14x-250.329.29$	0.260 0~50.0	0.995 6
芦丁	$y=539.812.32x-313.419.09$	3.109 0~102.0	0.999 9
没食子酸	$y=312.468.06x-125.643.89$	1.018 0~40.0	0.998 9
山柰酚	$y=213.467.42x-128.986.34$	0.063 0~36.0	0.998 8

2.5 精密度试验

量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次。结果,原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚峰面积的RSD分别为0.78%、0.98%、1.2%、1.1%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

同一批供试品(批号:20140709),按“2.2”项下方法制成供试品溶液,室温放置,分别在0、4、8、12、24 h时,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚的RSD分别为0.62%、0.79%、0.83%、0.74%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

精密称取同一批(批号:20140709)的刺山柑供试品6份,每份约2.0 g,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果,原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚峰面积的RSD分别为0.88%、0.98%、0.67%、0.87%,表明该方法重复性较好。

2.8 加样回收率试验

取刺山柑果实粉末(批号:20140709)共6份,每份1.0 g,精密称定,分别精密加入原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚对照品各适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果详见表3。

表3 加样回收率测定结果($n=6$)

Tab 3 Results of recovery tests($n=6$)

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
原儿茶酸	2.798	1.160	3.976	101.55	101.77	0.40
	2.805	1.160	3.982	101.47		
	2.814	1.160	3.992	101.55		
	2.806	1.160	3.994	102.41		
	2.799	1.160	3.984	102.16		
	2.792	1.160	3.969	101.47		
芦丁	7.004	1.008	8.025	101.29	99.65	1.94
	7.018	1.008	8.007	98.12		
	7.116	1.008	8.106	98.21		
	7.090	1.008	8.109	101.09		
	7.028	1.008	8.054	101.79		
	7.055	1.008	8.037	97.42		
没食子酸	2.827	1.160	3.964	98.02	98.22	1.33
	2.865	1.160	4.008	98.53		
	2.881	1.160	3.994	95.95		
	2.849	1.160	3.997	98.97		
	2.851	1.160	3.988	98.02		
	2.864	1.160	4.022	99.83		
山柰酚	1.000	0.500	1.501	100.20	101.40	1.65
	1.011	0.500	1.520	101.80		
	1.009	0.500	1.506	99.40		
	0.998	0.500	1.501	100.60		
	0.987	0.500	1.499	102.40		
	0.968	0.500	1.488	104.00		

2.9 样品含量测定

取5个批次的刺山柑果实粉末各适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积,并计算样品含量,结果详见表4。

表4 样品含量测定结果($n=3$, mg/g)

Tab 4 Results of content determination($n=3$, mg/g)

批号	原儿茶酸	芦丁	没食子酸	山柰酚
20140709	1.95	7.78	2.82	1.13
20140922	3.27	8.19	3.16	1.68
20130912	2.05	7.79	2.64	1.54
20131015	2.96	7.18	1.89	1.56
20131123	2.09	7.89	2.67	1.21

3 讨论

3.1 提取方法的确立

本研究中考察了甲醇、95%乙醇加热超声的方法提取供试品,结果发现95%乙醇提取的供试品分离出的色谱峰较少且只含有芦丁、原儿茶酸成分,且杂质峰较多^[8-9]。为了增加色

药学专业人才“产-学-研”结合教育模式的探索与实践[△]

吴春丽*, 可 钰, 刘宏民(郑州大学药学院, 郑州 450001)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-3010-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.48

摘要 目的:探索培养“产-学-研”相结合的药学人才新模式。方法:根据“优势互补、利益共享、互惠互利”的原则建立科研-教学互动平台。结果:改变了传统的授课模式,在“四个分析、两个设置和一个实施”的基础上确定了学生4年的专业规划、课程体系建设和培养目标。结论:该模式拓宽了学生与用人单位合作的机会,增强了学生的创新与创业意识,培养了药学发展需要的工程型、技术型和技能型人才,解决了产学研结合的问题,对我国药学教育的发展具有一定的借鉴意义。

关键词 药学教育;人才培养模式;产-学-研

Exploration and Practice of Industry-university-institute Unification Mode for Pharmacy Professionals

WU Chun-li, KE Yu, LIU Hong-min (School of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To explore the new mode of industry-university-institute unification for pharmacy professionals. METHODS: The research-teaching interactive platform was established through the principles of “complementary advantages, shared interests and mutual benefits”. RESULTS: It changed the traditional teaching mode, and it ensured the professional planning, curriculum development and training objectives of students based on “4 analysis, 2 setting and 1 implementation”. CONCLUSIONS: The opportunities for cooperation between students and employers were broadened and students’ awareness of innovation and entrepreneurship was enhanced. It cultivates project-based pharmaceutical, technical and skilled personnel, solves the problem of industry-university-institute unification and has certain significance for the development of China’s pharmaceutical education.

KEYWORDS Pharmacy education; Talents training mode; Industry-university-institute

谱峰数量,进一步考察了甲醇、50%甲醇、70%乙醇、95%乙醇回流提取的方法,发现以95%乙醇回流提取色谱峰分离的较好、提取效率较高。故选用95%乙醇为提取溶剂,回流提取(65℃)2次,水浴蒸干,残渣加流动相溶解的方法。

3.2 流动相的选择

刺山柑主要中含有挥发油类、硫苷类、黄酮类、生物碱类等多种化学成分^[10-11],针对其中黄酮类成分进行分离流动相的选择应具有专属性、所测成分色谱峰尽可能缩短分析时间同时得到良好的分离的要求,考察了0.2%甲酸、0.1%磷酸,结果乙腈-0.1%磷酸的分离效果优于乙腈-0.2%甲酸。

综上所述,本方法专属性强,能快速、准确地测定刺山柑药材中原儿茶酸、芦丁、没食子酸、山柰酚4种指标成分的含量。

参考文献

- [1] 中国医学百科全书编辑委员会.中国医学百科全书:维吾尔医学[M].上海:上海科学技术出版社,2005:299.
- [2] 李海军,白红进,张继文,等.刺山柑果实中硫单质的分离与晶体结构[J].广西植物,2012,32(2):257.

- [3] 杨伟俊,阿不都沙拉木,陈燕,等.刺山柑果质量标准研究[J].时珍国医国药,2011,22(1):133.
- [4] 张陈云,白红进.刺山柑茎中化学成分的初步研究[J].天津农学院学报,2009,16(4):38.
- [5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,2005:666.
- [6] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第32卷[M].北京:科学出版社,1999:495.
- [7] 新疆植物志编辑委员会.新疆植物志:第2卷:第2分册[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1995:36.
- [8] 匡艳辉,朱晶晶,王智民,等.一测多评法测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱含量[J].中国药学杂志,2009,44(5):390.
- [9] 陶君彦,张晓昱,黄志军,等.HPLC法同时测定木瓜中绿原酸、咖啡酸的含量[J].中国药房,2007,18(12):354.
- [10] 吾斯曼·吐尔逊.刺山柑(老鼠瓜)的药用探索[J].中国民族医药杂志,2006,12(4):33.
- [11] 敖明章,高莹莹,余龙江.刺山柑化学成分及其药理活性研究进展[J].中草药,2007,35(3):463.

[△] 基金项目:河南省高等教育教学改革研究项目(No.教高[2012]268号)

* 副教授,硕士生导师。研究方向:药学教育。电话:0371-67781894。E-mail:kedi2009@126.com

(收稿日期:2015-03-14 修回日期:2015-06-04)

(编辑:余庆华)